

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/FR05/000342

International filing date: 14 February 2005 (14.02.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: FR
Number: 0401579
Filing date: 17 February 2004 (17.02.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 25 April 2005 (25.04.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse



BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 18 FEV. 2005

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr





26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

**BREVET D'INVENTION
CERTIFICAT D'UTILITÉ**

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

page 1/2



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 © W / 210502

<div>Réservé à l'INPI</div>					
REMISE DES PIÈCES DATE 17 FEV 2004 LIEU 75 INPI PARIS B					
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI			<div>NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRSSÉE</div> <p>CABINET ORES 36, rue de St Pétersbourg 75008 PARIS</p>		
Vos références pour ce dossier <i>(facultatif)</i> SGimF263/92FR					
Confirmation d'un dépôt par télécopie			<input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie		
2 NATURE DE LA DEMANDE Demande de brevet Demande de certificat d'utilité Demande divisionnaire <i>Demande de brevet initiale</i> ou demande de certificat d'utilité initiale Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i>			Cochez l'une des 4 cases suivantes <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> N° _____ Date ____ / ____ / ____ N° _____ Date ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/> N° _____ Date ____ / ____ / ____		
3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) MEMBRANES CATANIONIQUES CRISTALLISÉES STABILISÉES PAR DES POLYMERES, LEUR PROCÉDÉ DE PRÉPARATION ET APPLICATIONS					
4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE			Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____ / ____ / ____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____ / ____ / ____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»		
5 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)			<input checked="" type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique		
Nom ou dénomination sociale			COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE		
Prénoms					
Forme juridique					
N° SIREN			_____		
Code APE-NAF			_____/_____		
Domicile ou siège	Rue	31-33 rue de la Fédération			
	Code postal et ville	7 5 0 1 : 5 PARIS			
	Pays	FRANCE			
Nationalité					
N° de téléphone (<i>facultatif</i>)			N° de télécopie (<i>facultatif</i>)		
Adresse électronique (<i>facultatif</i>)					
<input type="checkbox"/> S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»					

Remplir impérativement la 2^{ème} page



BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE
page 2/2

BR2

REMISE DES PIÈCES	
DATE	17 FEV 2004
LIEU	75 INPI PARIS B
N° D'ENREGISTREMENT	0401579
NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI	

DB 540 W / 210502

6 MANDATAIRE (s'il y a lieu)		
Nom		GOULARD
Prénom		Sophie
Cabinet ou Société		CABINET ORES
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel		
Adresse	Rue	36, rue de St Pétersbourg
	Code postal et ville	75 010 18 PARIS
	Pays	FRANCE
N° de téléphone (facultatif)		01 53 21 11 00
N° de télécopie (facultatif)		01 53 21 08 88
Adresse électronique (facultatif)		ores@cabinet-ores.com
7 INVENTEUR (S)		Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques
Les demandeurs et les inventeurs sont les mêmes personnes		<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)
8 RAPPORT DE RECHERCHE		Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)
Établissement immédiat ou établissement différé		<input checked="" type="checkbox"/> Établissement immédiat <input type="checkbox"/> Établissement différé
Paiement échelonné de la redevance (en deux versements)		Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES		Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence): AG <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
10 SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS		<input type="checkbox"/> Cochez la case si la description contient une liste de séquences
Le support électronique de données est joint		<input type="checkbox"/>
La déclaration de conformité de la liste de séquences sur support papier avec le support électronique de données est jointe		<input type="checkbox"/>
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes		
11 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) Sophie GOULARD N°02-0503		VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI

La présente invention est relative à des membranes catanioniques cristallisées stabilisées par des polymères, à leur procédé de préparation et à leurs utilisations, notamment à titre de médicament pour la vectorisation d'espèces actives ou pour la rétention par adsorption de molécules volatiles.

5 Les mélanges de tensioactifs anioniques et cationiques en milieu aqueux donnent naissance à ce qu'il est convenu d'appeler des solutions "catanioniques".

Après appariement ionique, les contre-ions forment un sel en excès et induisent une conductivité élevée des échantillons qui masque les interactions électrostatiques. Un type particulier de formulation catanionique exempte de sel est obtenu en utilisant uniquement des contre-ions H^+ et OH^- , de telle sorte qu'aucun excès de sel n'est formé par le mélange des deux tensioactifs (Dubois M. *et al.*, C. R. Acad. Sci. Paris II C, 1998, 1(9) 567-565). Les systèmes catanioniques résultants sont couramment appelés "systèmes catanioniques vrais".

15 Lorsque ces solutions catanioniques sont chauffées à une température supérieure à la température de fusion des chaînes, les tensioactifs anioniques et cationiques s'auto-assemblent sous la forme de micelles stables de formes variées (sphères, cylindres ou encore bicouches pliées). En fonction des proportions relatives entre constituants cationiques et anioniques, différentes formes de structures peuvent être ensuite obtenues lors du refroidissement de ces solutions.

20 Lorsque la solution catanionique renferme un excès de tensioactifs cationiques, on observe la formation de nanodisques cristallisés formés d'une structure en sandwich à membrane externe rigide, dont le diamètre, ajustable, peut varier de quelques microns à une trentaine de nanomètres et dans lesquels les charges positives sont majoritairement localisées au niveau de la tranche. La structure et le procédé de préparation de ces nanodisques catanioniques sont notamment décrits dans l'article de Zemb T. *et al.*, Science, 1999, 283, 816-819.

A l'inverse, lorsque la solution catanionique renferme un excès de tensioactifs anioniques, on observe la formation de polyèdres creux dont la forme variera en fonction de la quantité de tensioactifs anioniques en excès. Dans certaines conditions, on observe en particulier la formation d'icosaèdres creux dont la forme

rappelle celle observée pour les protéines de capsides virales. Leur structure et leur procédé de préparation sont notamment décrits dans l'article de Dubois M. *et al.*, Nature, 2001, **411**, 672-675. Cet article décrit notamment des icosaèdres de taille micrométrique et d'un poids d'environ 10^{10} daltons dont la structure est en partie stabilisée par la présence de pores aux sommets des polyèdres. Selon cet article, la formation d'icosaèdre nécessite la réunion des trois conditions suivantes :

- 1) la formation de vésicules unilamellaires stables lors du mélange équimolaire à haute température des solutions de tensioactifs anioniques et cationiques,
- 2) l'excès de tensioactif anionique doit être insoluble dans l'eau et dans la bicouche cristallisée obtenue lors du mélange équimolaire des tensioactifs anioniques et cationiques,
- 3) la quantité de tensioactif en excès doit être telle qu'elle permette la formation de 10 à 15 pores par vésicule.

L'absence de la condition 3) conduit à la formation de nanodisques ou de grandes bicouches cristallines ouvertes incluant des pores.

Toujours selon l'enseignement de cet article et grâce à la présence de ces pores, différentes utilisations de tels polyèdres pourraient être envisagées. Ils pourraient par exemple être utilisés à titre de médicaments pour la libération contrôlée de principes actifs ou d'ADN en thérapie génique ou l'isolement de brins d'ARN afin de les protéger de l'action d'enzymes destructrices. Cependant, ces polyèdres présentent l'inconvénient majeur d'être particulièrement sensibles à la moindre présence de sels, et ont tendance à s'agglomérer entre eux, interdisant par exemple leur utilisation dans les milieux physiologiques tels que par exemple le milieu sanguin et par conséquent leur injection par voie intraveineuse.

Par ailleurs, diverses structures permettant de délivrer des principes actifs, incluant des formes à libération prolongée, ont déjà été proposées et sont basées sur l'encapsulation d'ingrédients actifs à l'intérieur de vésicules. C'est ainsi que dans ce but, un grand nombre de documents de l'art antérieur a décrit l'utilisation de vésicules sphériques constituées d'une ou plusieurs bicouches lipidiques et communément désignés sous le nom de liposomes. Cependant l'utilisation de liposomes ne donne pas

toujours entière satisfaction en terme de stabilité notamment et également dans la mesure où leur préparation met en œuvre des procédés nécessitant l'emploi de solvants organiques dont l'utilisation n'est pas forcément compatible avec les milieux physiologiques et un matériel particulier.

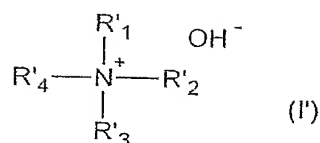
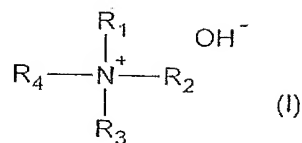
5 C'est donc afin de remédier à l'ensemble de ces inconvénients et de pourvoir à un nouveau système de délivrance de molécules actives qui soit stable, résistant à des forces ioniques élevées et simple à mettre en œuvre que les Inventeurs ont mis au point ce qui fait l'objet de la présente Invention.

10 L'Invention a donc pour premier objet une membrane catanionique sous forme d'une bicouche solide organisée comprenant une alternance latérale de tensioactifs anioniques à contre ions H^+ et de tensioactifs cationiques à contre ions OH^- co-cristallisés dans laquelle le rapport molaire tensioactifs anioniques/tensioactifs cationiques est supérieur à 1, ladite membrane formant une surface au moins localement plane, caractérisée par le fait que ladite bicouche est stabilisée par au
15 moins un polymère neutre partiellement hydrophobe ou de charge électrique globale négative adsorbé sur ladite surface.

La présence des polymères adsorbés à la surface permet de stabiliser les membranes catanioniques conformes à l'Invention au cours du mouvement brownien, et permet en particulier de conserver une distance d'au moins un nanomètre
20 entre deux membranes évitant leur précipitation et permettant ainsi leur dilution par des solutions isotoniques telles que l'eau de mer ou le milieu sanguin.

Les tensioactifs cationiques et anioniques pouvant être utilisés conformément à l'Invention sont de préférence choisis parmi les composés présentant une température de fusion supérieure à la température d'utilisation de façon à se
25 présenter sous forme cristallisée. La température d'utilisation pouvant varier entre 20 et 30°C, on choisira plus particulièrement des tensioactifs ayant une température de fusion supérieure à 30°C.

Les tensioactifs cationiques pouvant être utilisés conformément à l'Invention pour la formation des bicouches, sont de préférence choisis parmi les
30 ammoniums quaternaires mono- et bicationnaires respectivement de formules (I) et (I') suivantes :



dans lesquelles :

- R_1 , R_2 et R_3 , identiques ou différents, représentent un radical alkyle en C_1 - C_4 , hydroxyalkyle en C_1 - C_4 ou alkyl(C_1 - C_4)éther,

- R'_1 et R'_2 , identiques ou différents, représentent un radical alkyle en C_1 - C_4 , hydroxyalkyle en C_1 - C_4 ou alkyl(C_1 - C_4)éther,

- R'_3 et R'_4 , identiques ou différents, représentent une chaîne hydrocarbonée saturée ou insaturée en C_8 - C_{24} , un radical benzyle, alkyl(C_4 - C_{20})benzyle ou un groupement alkyl(C_4 - C_{20})ester,

- R_4 représente une chaîne hydrocarbonée saturée ou insaturée en C_8 - C_{24} , un radical benzyle, alkyl(C_4 - C_{20})benzyle, ou un groupement alkyl(C_4 - C_{20})ester ;

et leurs mélanges.

Parmi les radicaux alkyle en C_1 - C_4 des tensioactifs cationiques de formules (I) et (I') ci-dessus, le radical méthyle est particulièrement préféré.

Parmi les chaînes hydrocarbonées en C_8 - C_{24} des radicaux R'_3 , R'_4 et R_4 , on peut notamment citer les chaînes alkyle telles que par exemple les chaînes stéaryle, cétyle, dodécyle et tétradécyle.

Parmi les groupements alkyl(C_4 - C_{20})ester mentionnés pour les radicaux R'_3 , R'_4 et R_4 , on peut en particulier citer les alkyl(C_{16})esters et les alkyl(C_{12})esters.

Parmi les composés de formule (I) ci-dessus à contre ion OH^- , on peut en particulier citer l'hydroxyde de cétyltriméthylammonium, l'hydroxyde de dodécyltriméthylammonium, l'hydroxyde de stéaryltriméthylammonium, l'hydroxyde de tétradécyltriméthylammonium, l'hydroxyde de N-(2-carboxyxyéthyl)-N,N-diméthyl 1-hexadécanaminium, l'hydroxyde de N-(2-hydroxyéthyl)-N,N-diméthyl 1-hexadécanaminium, l'hydroxyde de cétyltriéthylammonium, l'hydroxyde de dodécyltriéthylammonium, l'hydroxyde de stéaryltriéthylammonium, l'hydroxyde de

tetradécyltriéthylammonium, l'hydroxyde de cétyltripropylammonium, l'hydroxyde de dodécyltripropylammonium, l'hydroxyde de stéaryltripropylammonium, l'hydroxyde de tetradécyltripropylammonium.

Parmi les composés de formule (I') ci-dessus, on peut en particulier
5 citer l'hydroxyde de didodécyl-diméthylammonium, l'hydroxyde de didodécyl-diéthylammonium, l'hydroxyde de didodécyl-dipropylammonium et l'hydroxyde de didodécyl-dibutylammonium.

Les tensioactifs anioniques pouvant être utilisés conformément à
l'Invention pour la formation des bicouches, sont de préférence choisis parmi les
10 acides carboxyliques à chaîne hydrophobe carbonée en C_8 - C_{24} à contre ions H^+ et les phosphates et sulfonates à contre ions H^+ comportant une ou deux chaînes alkyle en C_8 - C_{24} .

Parmi ces tensioactifs anioniques, on peut en particulier citer les
acides gras tels que l'acide myristique, l'acide laurique et l'acide palmitique ainsi que
15 les phosphates, sulfates ou benzylsulfates de monoester de glycérol monocaténares présentant, de préférence, un pic fin de diffraction de rayons X aux grands angles après association avec le tensioactif cationique situé à $q = 1,52 \pm 0,15 \text{ \AA}^{-1}$ sans épaulement comme décrit par exemple par Rank J.L. *et al.*, J. Mol. Biol., 1974, 85(2), 249-277.

Il est possible, conformément à l'Invention, d'associer n'importe quel
20 type de tensioactif anionique à contre H^+ avec n'importe quel type de tensioactif cationique à contre ion OH^- et en particulier à n'importe quel tensioactif cationique de formule (I) et/ou de formule (I') puisqu'il est possible de prévoir un mélange de tensioactifs cationique mono et bicaténares.

Comme cela a été indiqué précédemment, une des caractéristiques
25 essentielles de l'Invention est que le rapport molaire tensioactifs anioniques/tensioactifs cationiques doit être supérieur à 1. Selon une forme de réalisation préférée de l'Invention, ce rapport molaire est compris entre 2:1 et 1,05:0,95. Il est également possible d'exprimer le rapport molaire sous la forme d'une
30 fraction molaire qui est égale à la quantité molaire de tensioactifs anioniques / quantité molaire de (tensioactifs cationiques + tensioactifs anioniques). Dans ce cas, ladite

fraction molaire est de préférence comprise entre 0,52 et 0,66 et encore plus préférentiellement entre 0,55 et 0,58.

Selon une forme de réalisation particulière et préférée de l'Invention, les bicouches sont constituées :

5 a) soit d'un tensioactif cationique de formule (I) telle que définies ci-dessus et dans laquelle les radicaux R_1 , R_2 et R_3 sont identiques et représentent un radical méthyle et R_4 représente une chaîne hydrocarbonée ayant X atomes de carbone, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement, associé à un acide carboxylique tel que défini ci-dessus dans lequel la chaîne hydrophobe carbonée en C_8-C_{24} contient $X \pm 4$
10 atomes de carbone ;

b) soit d'un tensioactif cationique de formule (I') telle que définie ci-dessus dans laquelle les radicaux R'_1 et R'_2 sont identiques et représentent un radical méthyle et R'_3 et R'_4 sont identiques et représentent une chaîne hydrocarbonée ayant X atomes de carbone, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement, associé à un acide
15 carboxylique tel que défini ci-dessus dans lequel la chaîne hydrophobe carbonée en C_8-C_{24} contient $X \pm 4$ atomes de carbone ;

c) soit d'un phosphate ou d'un sulfonate comportant deux chaînes alkyle identiques ayant X atomes de carbones, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement associé à tensioactif cationique de formule (I) tel que défini ci-dessus et
20 dans laquelle les radicaux R_1 , R_2 et R_3 sont identiques et représentent un radical méthyle et R_4 représente une chaîne alkyle en C_8-C_{24} ;

d) soit d'un phosphate ou d'un sulfonate comportant une seule chaîne alkyle ayant X atomes de carbones, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement associé à tensioactif cationique de formule (I') tel que défini ci-dessus et dans laquelle
25 les radicaux R'_1 et R'_2 sont identiques et représentent un radical méthyle et R'_3 et R'_4 sont identiques et représentent une chaîne alkyle en C_8-C_{24} .

Selon une forme encore plus particulièrement préférée de l'Invention, les bicouches sont formées d'une association de cetyltriméthylammonium à contre ion OH^- et d'acide myristique à contre ion H^+ .

30 En plus, des tensioactifs anioniques à contre-ions H^+ , les bicouches conformes à l'Invention peuvent en outre renfermer une quantité molaire minoritaire

de tensioactifs anioniques à contre-ion métallique, et en particulier à contre-ion sodium, magnésium, lithium, chrome, vanadium ou nickel par exemple, lesdits tensioactifs étant choisis parmi les tensioactifs anioniques cités précédemment, à l'exception bien entendu de la nature du contre-ion. Selon l'Invention, on entend par
5 quantité molaire "minoritaire", une quantité de tensioactif anionique à contre ion métallique nécessaire pour amener la fraction molaire finale dans l'intervalle compris entre 0,52 et 0,66 tel que défini précédemment.

Selon une forme de réalisation particulière de l'Invention, les paires d'ions formant les têtes polaires des tensioactifs cationiques et anioniques occupent
10 perpendiculairement une surface de préférence égale à celle des chaînes cristallisées, sur un réseau hexagonal, détectables par un premier pic fin situé autour de $Q = 1,52 \text{ \AA}^{-1} \pm 0,15 \text{ \AA}^{-1}$.

Selon une forme de réalisation avantageuse de l'Invention, les polymères neutres ou de charge globale négative adsorbés à la surface des bicouches conformes à l'Invention et assurant leur stabilité sont des polymères non lipidiques
15 choisis parmi :

- les polysaccharides tels que par exemple les dextrans et les dérivés de cellulose tels que les hydroxyméthylcelluloses, les hydroxyéthylcelluloses et les hydroxypropylcelluloses,
- 20 - les polymères de synthèse tels que les polyéthylèneglycols (PEG), la polyvinylpyrrolidone (PVP), les polystyrènes, les polyacrylates, les polyvinylalcools tels que les produits vendus sous les dénominations commerciales PVA, Ethenol®, Poval®, Acroflex®, Airvol®, alcotex® ou Aquafilm®.

Parmi ces polymères, on préfère tout particulièrement utiliser des polymères faiblement adsorbants tels que le polyoxyéthylène, le dextrane, la
25 polyvinylpyrrolidone (PVP), les polymères di-blocs oxyéthylénés tels que les polymères vendus sous la dénomination commerciale Varonic® par la société Degussa-Goldschmidt, les copolymères blocs à base d'oxyde d'éthylène et d'oxyde de propylène tels que les polymères vendus par les société BASF sous les dénominations
30 commerciales Pluronic® et Lutrol® et leurs équivalents hydrosolubles, les copolymères tri-blocs hydrosolubles c'est-à-dire les copolymères composés de blocs

hydrophile-hydrophobe-hydrophile tels que les produits vendus sous les dénominations Méthyl-Oxirane, copolymère EOPO, Pluronic®, AntaroX®, Arcol®, Daltocel®, Dowfax® et leurs analogues comportant du polystyrène comme groupement hydrophobe

5 Parmi ces polymères, on préfère encore plus particulièrement utiliser un polyéthylèneglycol de masse moléculaire comprise entre 5 000 et 50 000 Da, et encore plus préférentiellement entre 10 000 et 20 000 Da.

 Ces polymères représentent de préférence de 50 à 400 % et encore plus particulièrement de 100 à 200 % en poids par rapport au poids total de la
10 bicouche.

 Les membranes catanioniques conformes à l'invention peuvent notamment se présenter sous la forme de polyèdres creux comportant de 12 à 30 faces et en particulier sous la forme d'icosaèdres creux. Elles peuvent également se présenter sous la forme de fragments de polyèdres creux, c'est à dire sous la forme d'un cristal
15 catanionique tridimensionnel. La présentation sous forme d'icosaèdre creux est particulièrement préférée. Cette forme est obtenue lorsque la fraction molaire tensioactif anionique/(tensioactif cationique + tensioactif anionique) est comprise entre 0,55 et 0,58.

 Après leur formation et avant l'adsorption du polymère stabilisant
20 spécifique, le pH de la solution de membranes peut être ajusté à toute valeur de pH comprise entre 2 et 6. Ceci permet la réalisation de réactions en milieu acide et permet également d'éviter la précipitation de cristaux macroscopiques. Pour ce faire, on utilisera de préférence des acides à contre-ions hydrophiles tels que par exemple l'acide chlorhydrique, l'acide acétique et l'acide citrique.

25 Ces membranes catanioniques sont stables en milieux physiologiques et permettent notamment de retenir par adsorption et/ou encapsulation et de contrôler la diffusion lente, de molécules actives pharmaceutiques, cosmétiques ou bien encore de cellules telles que des bactéries par exemple. Elles sont capables en particulier de résister à de fortes compressions osmotiques et même à la
30 transformation de l'eau en glace tout en restant sous forme d'agrégats bien individualisés à parois rigides et localement planes.

La présente Invention a également pour objet un procédé de préparation d'une membrane catanionique conforme à l'invention et telle que décrite ci-dessus, caractérisé par le fait qu'il comprend les étapes suivantes :

- une première étape de formation de vésicules unilamellaires par mélange, dans un solvant aqueux de faible conductivité :

a) d'un tensioactif cationique (TC) à contre-ions OH^- en une quantité molaire Q_C et

b) d'un ou plusieurs tensioactifs anioniques (TA) en une quantité molaire Q_A strictement supérieure à Q_C , et répondant aux équations (1) à (3) suivantes :

$$Q_A = Q_{A1} + Q_{A2} \quad (1)$$

$$Q_{A1} = Q_C \quad (2) \text{ et}$$

$$Q_{A2} < 2(Q_C) \quad (3)$$

dans lesquelles :

- Q_{A1} est la quantité molaire d'un tensioactif anionique à contre-ion H^+

- Q_{A2} est la quantité molaire d'un tensioactif anionique à contre-ion H^+ ou à contre-ion métallique, lesdits tensioactifs ayant une chaîne carbonée identique à celle du TC ou du TA à contre-ion H^+ utilisé en quantité Q_{A1} ,

ledit mélange de tensioactif cationique et de tensioactif anionique étant réalisé à une température supérieure à la température de fusion des chaînes desdits tensioactifs ;

- une deuxième étape d'obtention d'agrégats plans formés d'une seule bicouche moléculaire cristallisée, inter-digitée ou non, par refroidissement du mélange obtenu à la première étape à une température inférieure à la température de fusion des chaînes des tensioactifs présents dans le mélange ;

- une troisième étape de stabilisation des bicouches moléculaires cristallisées obtenues ci-dessus à la deuxième étape, par ajout d'au moins un polymère neutre partiellement hydrophobe ou d'un polymère de charge globale négative en solution dans un solvant aqueux de faible conductivité, ladite étape étant réalisée à une

température inférieure à la température de fusion des chaînes des tensioactifs présents au sein du mélange.

Lors de la première étape, la dissolution des tensioactifs dans le solvant aqueux est de préférence réalisée de façon lente et peut notamment se
5 poursuivre pendant des durées variables allant d'une heure à une semaine, sous agitation mécanique minime.

Selon une première forme de réalisation particulière de ce procédé, et lorsque les tensioactifs anioniques utilisés lors de la première étape sont uniquement constitués de TA à contre-ions H^+ , on parle alors de mélange catanionique vrai
10 comportant donc uniquement des contre-ions OH^- (apporté par les TC) et des contre-ions H^+ . Dans ce cas, le mélange des TA et TC peut éventuellement être réalisé de façon préalable sous forme de poudre avant dissolution dans le solvant.

Selon une deuxième forme de réalisation de ce procédé, et lorsque l'excès de TA est constitué par des TA à contre-ions métalliques, alors la première
15 étape du procédé conforme à l'Invention comprend :

- une première sous étape au cours de laquelle on réalise d'abord le mélange du TC à contre-ion OH^- avec le TA à contre ions H^+ en une quantité Q_{A1} égale à Q_C , puis

- une deuxième sous étape au cours de laquelle on ajoute ensuite la
20 quantité molaire Q_{A2} de TA à contre-ion métallique.

Dans ce cas la nature des contre-ions métalliques pourra être choisie en fonction de la propriété que l'on souhaite conférer à la membrane cationique conforme à la présente Invention. A titre d'exemple, on peut notamment citer les contre-ions sodium à propriétés anti-corrosives, ainsi que les ions chrome, vanadium
25 et nickel qui ont des propriétés inhibitrices de la corrosion électrochimique des alliages de fer.

Une fois que les solutions de tensioactifs sont optiquement homogènes, l'étape de chauffage permet de fondre entièrement les chaînes des tensioactifs associées aux paires d'ions formées au cours de la dissolution lente. Lors
30 de cette étape, les composés destinés à former les bicouches conformes à l'Invention sont dispersés sous forme de vésicules en forte répulsion électrostatique. Chaque

vésicule constitue un micro-réacteur formé par une bicouche fluide (chaînes liquides) qui après l'étape de refroidissement se transformera en une bicouche rigide (chaînes gelées).

Les solvants aqueux utilisés au cours de ce procédé présentent de
5 préférence une conductivité inférieure ou égale à 1 MOhm environ. Ils sont de préférence choisis parmi l'eau, le glycérol et leurs mélanges.

Lors de la première étape, la concentration totale de tensioactifs (TA plus TC) au sein de la solution est de préférence comprise entre 0,01 et 3 % en poids par rapport au poids total de ladite solution.

10 Egalement lors de la première étape, la température à laquelle est chauffée le mélange dépend bien évidemment de la nature des tensioactifs cationiques et anioniques utilisés, cependant de manière générale, cette température est généralement supérieure à 50°C et inférieure à 80°C. Elle peut être ajustée pour
15 chaque solution à 5°C au dessus de la température du mélange considéré, détectable par un pic endothermique par calorimétrie à balayage différentiel (DSC).

Elle est encore plus préférentiellement comprise entre 55 et 70 °C. Ainsi, lors de la deuxième étape, le mélange est refroidi à une température de préférence inférieure à 40°C et encore plus préférentiellement à une température comprise entre la température ambiante et 25°C.

20 Selon une forme de réalisation particulière du procédé conforme à l'Invention, on peut en outre ajouter au mélange lors de la première étape, au moins une substance active non chargée électriquement qui se trouvera adsorbée à la surface des membranes catanioniques et/ou encapsulée à l'intérieur des vésicules. Parmi ces substances actives, on peut notamment citer les principes actifs pharmaceutiques, les
25 substances actives à visée cosmétique et en particulier les molécules odorantes volatiles, les cellules telles que les bactéries entières, les fragments d'ADN ou d'ARN.

Selon un mode de réalisation particulier du procédé conforme à l'Invention, il est également possible, au cours de la deuxième étape, d'ajuster le pH du mélange entre 2 et 6 comme indiqué précédemment.

30 Selon une forme de réalisation avantageuse de l'Invention et lorsque les membranes catanioniques se présentent sous la forme de polyèdres creux, alors le

procédé comporte généralement une étape supplémentaire d'élimination des substances actives qui n'auraient pas été encapsulées à l'intérieur des polyèdres ou qui se trouveraient adsorbées à leur surface. Cette étape d'élimination peut être réalisée par rinçage, notamment à l'aide d'un solvant aqueux identique à celui qui est utilisé pour la
5 préparation des membranes, par dialyse ou bien encore par filtration.

Selon l'Invention, la fraction de volume de polymère ajouté au mélange lors de la troisième étape est de préférence comprise entre une et deux fois la masse totale des tensioactifs cationiques et anioniques afin de présenter une couche de protection stérique ou électrostatique permettant l'ajout de sel sans destruction des
10 polyèdres facettés de type icosaèdres, ni la précipitation des espèces catanioniques formant un cristal tridimensionnel.

Enfin, l'Invention a également pour objet l'utilisation d'au moins une membrane catanionique conforme à l'Invention et telle que décrite ci-dessus, à titre de médicament pour la vectorisation d'espèces actives ou pour la rétention par adsorption
15 et diffusion lente de molécules volatiles.

Selon une forme de réalisation avantageuse de l'Invention, la membrane catanionique se présente sous la forme d'un polyèdre creux et est utilisée pour :

- l'encapsulation de médicaments, en vue de leur vectorisation,
- 20 - l'encapsulation de bactéries entières, de fragments d'ADN ou d'ARN, de façon à les rendre inaccessibles au système immunitaire,
- la rétention de réactifs pour des réactions chimiques se produisant à l'intérieur des polyèdres,
- la réalisation de réactions de précipitation ou de cristallisation à
25 l'intérieur des polyèdres, par diffusion lente de réactifs vers l'intérieur au travers des pores des polyèdres,
- à titre d'ingrédient cosmétique pour la fabrication de crèmes, obtenues par floculation sous la forme de grappes de polyèdres, et permettant la diffusion efficace de molécules actives après adsorption du polyèdre sur des surfaces
30 de potentiel électrique de surface opposé telles que la peau par exemple.

Outre les dispositions qui précèdent, l'invention comprend encore d'autres dispositions qui ressortiront de la description qui va suivre, qui se réfère à un exemple de préparation de polyèdres creux cristallisés à base d'hydroxyde de cetyltriméthylammonium et d'acide myristique à contre-ion H^+ et à un exemple de
5 préparation de polyèdres creux cristallisés à base d'hydroxyde de cetyltriméthylammonium et d'acide myristique à contre-ion H^+ et Li^+ , ainsi qu'aux figures 1 à 4 annexées dans lesquelles :

- la figure 1 représente une photographie en microscopie à cryofracture de polyèdres creux cristallisés à base d'hydroxyde de
10 cetyltriméthylammonium et d'acide myristique à contre-ion H^+ avant stabilisation par un polymère neutre (PEG 20 000) et à une concentration totale dans l'eau en tensioactifs de 1 % en poids et avec une fraction molaire $TA/(TA+TC)$ égale à 0,56 ;

- la figure 2 représente une photographie en microscopie à
15 cryofracture de polyèdres creux cristallisés à base d'hydroxyde de cetyltriméthylammonium et d'acide myristique à contre-ion H^+ après stabilisation par un polymère neutre de polyéthylèneglycol (PEG 20 000) et à une concentration totale dans l'eau en tensioactifs de 1 % en poids et avec une fraction molaire $TA/(TA+TC)$ égale à 0,56 ;

- la figure 3 annexée qui représente les spectres de diffraction de
20 rayons X à 25°C (structure cristallisée) et à 65°C (structure non cristallisée) de mélanges catanioniques de CTAOH et d'acide myristique à contre ions H^+ , sur laquelle l'intensité de diffusion (en cm^{-1}) est exprimée en fonction du vecteur d'onde Q (en \AA^{-1}) ;

- la figure 4 représente une photographie en microscopie à
25 cryofracture de polyèdres creux cristallisés à base d'hydroxyde de cetyltriméthylammonium et d'acide myristique à contre-ion H^+ en quantités équimolaires, et d'un excès d'acide myristique à contre-ion Li^+ .

Il doit être bien entendu toutefois que ces exemples sont donnés
uniquement à titre d'illustration de l'objet de l'invention dont ils ne constituent en
30 aucune manière une limitation.

EXEMPLE 1 : Préparation de polyèdres creux cristallisés à base d'hydroxyde de cétyltriméthylammonium et d'acide myristique à contre-ion H^+

Cet exemple illustre une des deux variantes du procédé de préparation des bicouches conformes à l'Invention, à savoir celle où l'on mélange
5 directement le TC à contre-ion OH^- et le TA à contre-ion H^+ en excès pour obtenir un mélange catanionique vrai et ce sans passer par une sous étape préalable de prémélange équimolaire de TA et TC.

Pour ce faire, on mélange, à l'état de poudres lyophilisées, 0,023 g d'hydroxyde de cétyltriméthylammonium (CTAOH) et 0,022 g d'acide myristique à
10 contre-ion H^+ . On obtient ainsi un mélange dont la fraction molaire acide myristique à contre-ion $H^+/(acide\ myristique\ à\ contre\ ion\ H^+ + CTAOH)$ est égale à 0,56. On ajoute ensuite au mélange de poudres ainsi obtenu, 4,46 g d'eau Millipore ($< 1\ Mohm/cm$) pour former une solution présentant une concentration pondérale totale en tensioactifs égale à 1 % et une fraction molaire TA/(TA+TC) égale à 0,56. En agitation douce
15 pendant une semaine, on laisse se dissoudre les composés à température ambiante. Après avoir constaté la dissolution complète des tensioactifs (disparition des grains solides d'acide myristique), on chauffe la solution à une température homogène et légèrement supérieure à $65^\circ C$ qui correspond à la température de fusion des chaînes des tensioactifs pendant une minute. On laisse ensuite refroidir la solution jusqu'à
20 température ambiante.

Indépendamment, on prépare une solution à 1,5 % en poids de polyéthylèneglycol vendu sous la dénomination PEG 20 000 (polymère neutre). On mélange à température ambiante, volume à volume, la solution de tensioactifs à la solution de polymère sous agitation douce. La dispersion finale obtenue peut être
25 concentrée par simple filtration en raison de la conjonction de la cristallisation des chaînes, de la taille des objets, de la faible viscosité de la solution et de la faible pression osmotique ($< 1000\ Pa$) de la dispersion finale obtenue.

La solution obtenue avant concentration est légèrement diffusante et bleuâtre et contient une dispersion d'objets facettés microniques creux détectables par
30 leur diffusion caractéristique décroissant comme le carré de l'angle de diffusion aux petits angles (lumière ou neutrons), associé à la présence d'un pic de Bragg fin ($<$

0,002 nm) situé entre $0,150 \text{ nm}^{-1}$ et $0,156 \text{ nm}^{-1}$ par diffusion des rayons X aux grands angles.

Par ailleurs, les propriétés de stabilité de la membrane selon l'Invention en présence de solutions salines jusqu'à l'osmolarité isotonique ont été démontrées par mélange avec une solution de chlorure de sodium concentrée jusqu'à
5 obtenir une concentration saline finale de 0,15 M.

Les boîtes icosaédriques ainsi obtenues ont été observées directement par microscopie à cryofracture. Les images obtenues sont reportées sur les figures 1 et 2 annexées prises avant et après stabilisation par le polymère neutre. La
10 nature cristallisée des faces a par ailleurs été vérifiée par diffraction de rayons X sur des échantillons de nature chimique identique mais plus concentrés (bande à $q = 1,52 \pm 0,01 \text{ \AA}^{-1}$ comme cela apparaît sur la figure 3 annexée qui représente l'intensité de diffusion (en cm^{-1}) en fonction du vecteur d'onde Q (en \AA^{-1}) à une température de 65°C (structure non cristallisée) et à une température de 25°C (structure cristallisée).

15 EXEMPLE 2 : Préparation de polyèdres creux cristallisés à base d'hydroxyde de cetyltriméthylammonium et d'acide myristique à contre-ion H^+ et d'un excès d'acide myristique à contre ion Li^+

Cet exemple illustre la deuxième variante du procédé conforme à l'Invention, c'est-à-dire la préparation de polyèdres creux dans lesquels l'excès de
20 tensioactif anionique est composé d'un tensioactif anionique à contre ion lithium, ce qui impose de réaliser la première étape du procédé en deux sous étapes tel que décrit explicitement précédemment.

Tout comme à l'exemple 1, on mélange tout d'abord 0,0230 g de CTAOH lyophilisé et 0,0174 g d'acide myristique à contre-ions H^+ puis on ajoute une
25 quantité d'eau Millipore ($>1 \text{ Mohm/cm}$) suffisante pour former une solution à 1 % en poids de tensioactifs totaux. Au sein de cette solution la quantité molaire Q_C de CTAOH est identique à la quantité molaire Q_{AI} d'acide myristique à contre-ion H^+ . On laisse ensuite se dissoudre le mélange de tensioactifs par agitation lente à température ambiante jusqu'à obtenir une solution qui ne contienne plus d'hétérogénéités visibles à
30 l'oeil et correspondant à des cristaux l'acide myristique. On chauffe ensuite la solution à une température supérieure à 50°C pendant 1 minute ; la solution doit être

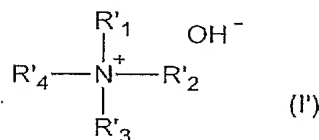
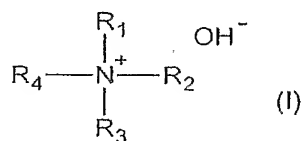
transparente et ne contenir aucun agrégat. On laisse refroidir à température ambiante. On ajoute ensuite à cette solution 0,0051 g de myristate de lithium en poudre. On obtient alors une solution de tensioactifs catanioniques au sein de laquelle le rapport molaire myristate ($H^+ + Li^+$) / (myristate ($H^+ + Li^+$) + CTAOH) est égal à 0,56. On agite le mélange à température ambiante pendant une semaine jusqu'à dissolution complète du myristate de lithium. On chauffe ensuite la solution catanionique à une température supérieure à 65°C pendant 1 minute, puis on laisse refroidir la solution jusqu'à température ambiante. Les objets obtenus par cette méthode ont la même structure que ceux de l'exemple 1 ci-dessus et apparaissent sur la figure 4 annexée réalisée par microscopie à cryofracture.

Indépendamment, on prépare une solution à 1,5 % en poids de polymère neutre : polyéthylèneglycol (PEG 20 000). On mélange à température ambiante, volume à volume, la solution catanionique à la solution de polymère neutre sous agitation douce. Comme dans l'exemple 1 ci-dessus, la dispersion finale obtenue peut être concentrée par simple filtration.

La signature structurale (non représentée) est semblable à celle de l'exemple 1, aussi bien par cryofracture que par rayons X.

REVENDICATIONS

1. Membrane catanionique sous forme d'une bicouche solide organisée comprenant une alternance latérale de tensioactifs anioniques à contre ions H^+ et de tensioactifs cationiques à contre ions OH^- co-cristallisés dans laquelle le rapport molaire tensioactifs anioniques/tensioactifs cationiques est supérieur à 1, ladite membrane formant une surface au moins localement plane, caractérisée par le fait que ladite bicouche est stabilisée par au moins un polymère neutre partiellement hydrophobe ou de charge électrique globale positive adsorbé sur ladite surface.
2. Membrane selon la revendication 1, caractérisée par le fait que les tensioactifs cationiques et anioniques sont choisis parmi les tensioactifs ayant une température de fusion supérieure à $30^\circ C$.
3. Membrane selon la revendication 1 ou 2, caractérisée par le fait que les tensioactifs cationiques sont choisis parmi les ammoniums quaternaires mono- et bicaténaires de formules (I) et (I') suivantes :

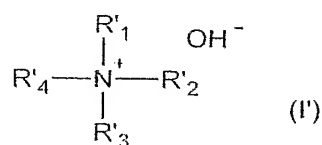
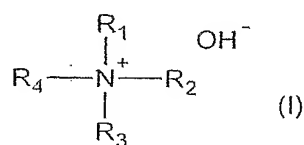


dans lesquelles :

- R_1 , R_2 et R_3 sont identiques et représentent un radical alkyle en C_1-C_4 , hydroxyalkyle en C_1-C_4 ou alkyl(C_1-C_4)éther,
 - R'_1 et R'_2 sont identiques et représentent un radical alkyle en C_1-C_4 , hydroxyalkyle en C_1-C_4 ou alkyl(C_1-C_4)éther,
 - R'_3 et R'_4 sont identiques et représentent une chaîne hydrocarbonée saturée ou insaturée en C_8-C_{24} , un radical benzyle, alkyl(C_4-C_{20})benzyle, ou un groupement alkyl(C_4-C_{20})ester,
 - R_4 représente une chaîne représentent une chaîne hydrocarbonée saturée ou insaturée en C_8-C_{24} , un radical benzyle, alkyl(C_4-C_{20})benzyle, ou un groupement alkyl(C_4-C_{20})ester ;
- et leurs mélanges.

REVENDEICATIONS

1. Membrane catanionique sous forme d'une bicouche solide organisée comprenant une alternance latérale de tensioactifs anioniques à contre ions H^+ et de tensioactifs cationiques à contre ions OH^- co-cristallisés dans laquelle le rapport molaire tensioactifs anioniques/tensioactifs cationiques est supérieur à 1, ladite membrane formant une surface au moins localement plane, caractérisée par le fait que ladite bicouche est stabilisée par au moins un polymère neutre partiellement hydrophobe ou de charge électrique globale négative adsorbé sur ladite surface.
2. Membrane selon la revendication 1, caractérisée par le fait que les tensioactifs cationiques et anioniques sont choisis parmi les tensioactifs ayant une température de fusion supérieure à $30^\circ C$.
3. Membrane selon la revendication 1 ou 2, caractérisée par le fait que les tensioactifs cationiques sont choisis parmi les ammoniums quaternaires mono- et bicaténaires de formules (I) et (I') suivantes :



dans lesquelles :

- R_1 , R_2 et R_3 sont identiques et représentent un radical alkyle en C_1-C_4 , hydroxyalkyle en C_1-C_4 ou alkyl(C_1-C_4)éther,
 - R'_1 et R'_2 sont identiques et représentent un radical alkyle en C_1-C_4 , hydroxyalkyle en C_1-C_4 ou alkyl(C_1-C_4)éther,
 - R'_3 et R'_4 sont identiques et représentent une chaîne hydrocarbonée saturée ou insaturée en C_8-C_{24} , un radical benzyle, alkyl(C_4-C_{20})benzyle, ou un groupement alkyl(C_4-C_{20})ester,
 - R_4 représente une chaîne hydrocarbonée saturée ou insaturée en C_8-C_{24} , un radical benzyle, alkyl(C_4-C_{20})benzyle, ou un groupement alkyl(C_4-C_{20})ester ;
- et leurs mélanges.

4. Membrane selon la revendication 3, caractérisée par le fait que les radicaux alkyle en C_1 - C_4 sont des radicaux méthyle.

5. Membrane selon la revendication 3 ou 4, caractérisée par le fait que les composés de formule (I) sont choisis parmi l'hydroxyde de cétyltriméthylammonium, l'hydroxyde de dodécyltriméthylammonium, l'hydroxyde de stéaryltriméthylammonium, l'hydroxyde de tétradécyltriméthylammonium, l'hydroxyde de N-(2-carboxyxyéthyl)-N,N-diméthyl 1-hexadécanaminium, l'hydroxyde de N-(2-hydroxyéthyl)-N,N-diméthyl 1-hexadécanaminium, l'hydroxyde de cétyltriéthylammonium, l'hydroxyde de dodécyltriéthylammonium, l'hydroxyde de stéaryltriéthylammonium, l'hydroxyde de tétradécyltriéthylammonium, l'hydroxyde de cétyltripropylammonium, l'hydroxyde de dodécyltripropylammonium, l'hydroxyde de stéaryltripropylammonium, l'hydroxyde de tétradécyltripropylammonium.

6. Membrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que les tensioactifs anioniques sont choisis parmi les acides carboxyliques à chaîne hydrophobe carbonée en C_8 - C_{24} à contre ions H^+ et les phosphates et sulfonates à contre ions H^+ comportant une ou deux chaînes alkyle en C_8 - C_{24} .

7. Membrane selon la revendication 6, caractérisée par le fait que les tensioactifs anioniques sont choisis parmi l'acide myristique, l'acide laurique et l'acide palmitique ainsi que parmi les phosphates, sulfates ou benzylsulfates de monoester de glycérol monocaténares.

8. Membrane selon l'une quelconque des revendications 3 à 7, caractérisée par le fait que les bicouches sont constituées :

a) soit d'un tensioactif cationique de formule (I) telle que définies ci-dessus et dans laquelle les radicaux R_1 , R_2 et R_3 sont identiques et représentent un radical méthyle et R_4 représente une chaîne hydrocarbonée ayant X atomes de carbone, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement, associé à un acide carboxylique tel que défini ci-dessus dans lequel la chaîne hydrophobe carbonée en C_8 - C_{24} contient $X \pm 4$ atomes de carbone ;

b) soit d'un tensioactif cationique de formule (I') telle que définie ci-dessus dans laquelle les radicaux R'_1 et R'_2 sont identiques et représentent un radical

4. Membrane selon la revendication 3, caractérisée par le fait que les radicaux alkyle en C_1-C_4 sont des radicaux méthyle.

5. Membrane selon la revendication 3 ou 4, caractérisée par le fait que les composés de formule (I) sont choisis parmi l'hydroxyde de cétyltriméthylammonium, l'hydroxyde de dodécyltriméthylammonium, l'hydroxyde de stéaryltriméthylammonium, l'hydroxyde de tétradécyltriméthylammonium, l'hydroxyde de N-(2-carboxyxyéthyl)-N,N-diméthyl 1-hexadécanaminium, l'hydroxyde de N-(2-hydroxyéthyl)-N,N-diméthyl 1-hexadécanaminium, l'hydroxyde de cétyltriéthylammonium, l'hydroxyde de dodécyltriéthylammonium, l'hydroxyde de stéaryltriéthylammonium, l'hydroxyde de tétradécyltriéthylammonium, l'hydroxyde de cétyltripropylammonium, l'hydroxyde de dodécyltripropylammonium, l'hydroxyde de stéaryltripropylammonium, l'hydroxyde de tétradécyltripropylammonium.

6. Membrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que les tensioactifs anioniques sont choisis parmi les acides carboxyliques à chaîne hydrophobe carbonée en C_8-C_{24} à contre ions H^+ et les phosphates et sulfonates à contre ions H^+ comportant une ou deux chaînes alkyle en C_8-C_{24} .

7. Membrane selon la revendication 6, caractérisée par le fait que les tensioactifs anioniques sont choisis parmi l'acide myristique, l'acide laurique et l'acide palmitique ainsi que parmi les phosphates, sulfates ou benzylsulfates de monoester de glycérol monocaténares.

8. Membrane selon l'une quelconque des revendications 3 à 7, caractérisée par le fait que les bicouches sont constituées :

a) soit d'un tensioactif cationique de formule (I) telle que définies ci-dessus et dans laquelle les radicaux R_1 , R_2 et R_3 sont identiques et représentent un radical méthyle et R_4 représente une chaîne hydrocarbonée ayant X atomes de carbone, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement, associé à un acide carboxylique tel que défini à la revendication 6 dans lequel la chaîne hydrophobe carbonée en C_8-C_{24} contient $X \pm 4$ atomes de carbone ;

b) soit d'un tensioactif cationique de formule (I') telle que définie ci-dessus dans laquelle les radicaux R'_1 et R'_2 sont identiques et représentent un radical

méthyle et R'_3 et R'_4 sont identiques et représentent une chaîne hydrocarbonée ayant X atomes de carbone, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement, associé à un acide carboxylique tel que défini ci-dessus dans lequel la chaîne hydrophobe carbonée en C_8-C_{24} contient $X \pm 4$ atomes de carbone ;

5 c) soit d'un phosphate ou d'un sulfonate comportant deux chaînes alkyle identiques ayant X atomes de carbones, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement associé à tensioactif cationique de formule (I) tel que défini ci-dessus et dans laquelle les radicaux R_1 , R_2 et R_3 sont identiques et représentent un radical méthyle et R_4 représente une chaîne alkyle en $C_{12}-C_{20}$;

10 d) soit d'un phosphate ou d'un sulfonate comportant une seule chaîne alkyle ayant X atomes de carbones, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement associé à tensioactif cationique de formule (I') tel que défini ci-dessus et dans laquelle les radicaux R'_1 et R'_2 sont identiques et représentent un radical méthyle et R'_3 et R'_4 sont identiques et représentent une chaîne alkyle en C_8-C_{24} .

15 9. Membrane selon la revendication 8, caractérisée par le fait que les bicouches sont formées d'une association de cétyltriméthylammonium à contre-ion OH^- et d'acide myristique à contre ion H^+ .

20 10. Membrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que la fraction molaire tensioactifs anioniques/(tensioactifs anioniques + tensioactifs cationiques) est comprise entre 0,52 et 0,66.

11. Membrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que les bicouches renferment en outre une quantité molaire minoritaire de tensioactifs anioniques à contre-ion métallique.

25 12. Membrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que les polymères neutres ou de charge globale positive adsorbés à la surface des bicouches sont des polymères non lipidiques choisis parmi les polysaccharides, les polyéthylèneglycols, la polyvinylpyrrolidone, les polystyrènes, les polyacrylates et les polyvinylalcools.

méthyle et R'_3 et R'_4 sont identiques et représentent une chaîne hydrocarbonée ayant X atomes de carbone, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement, associé à un acide carboxylique tel que défini à la revendication 6 dans lequel la chaîne hydrophobe carbonée en C_8-C_{24} contient $X \pm 4$ atomes de carbone ;

5 c) soit d'un phosphate ou d'un sulfonate comportant deux chaînes alkyle identiques ayant X atomes de carbones, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement associé à tensioactif cationique de formule (I) tel que défini ci-dessus et dans laquelle les radicaux R_1 , R_2 et R_3 sont identiques et représentent un radical méthyle et R_4 représente une chaîne alkyle en C_8-C_{24} ;

10 d) soit d'un phosphate ou d'un sulfonate comportant une seule chaîne alkyle ayant X atomes de carbones, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement associé à tensioactif cationique de formule (I') tel que défini ci-dessus et dans laquelle les radicaux R'_1 et R'_2 sont identiques et représentent un radical méthyle et R'_3 et R'_4 sont identiques et représentent une chaîne alkyle en C_8-C_{24} .

15 9. Membrane selon la revendication 8, caractérisée par le fait que les bicouches sont formées d'une association de cetyltriméthylammonium à contre ion OH^- et d'acide myristique à contre ion H^+ .

20 10. Membrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que la fraction molaire tensioactifs anioniques/(tensioactifs anioniques + tensioactifs cationiques) est comprise entre 0,52 et 0,66.

11. Membrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que les bicouches renferment en outre une quantité molaire minoritaire de tensioactifs anioniques à contre-ion métallique.

25 12. Membrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que les polymères neutres ou de charge globale positive adsorbés à la surface des bicouches sont des polymères non lipidiques choisis parmi les polysaccharides, les polyéthylèneglycols, la polyvinylpyrrolidone, les polystyrènes, les polyacrylates et les polyvinylalcools.

13. Membrane selon la revendication 12, caractérisé par le fait que ledit polymère est un polyéthylèneglycol de masse moléculaire comprise entre 5 000 et 50 000 Da.

14. Membrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que lesdits polymères représentent de 50 à 400 % en poids par rapport au poids total de la bicouche.

15. Membrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait qu'elle se présente sous la forme de polyèdres creux comportant de 12 à 30 faces ou sous la forme de fragments de polyèdres creux, c'est à dire sous la forme d'un cristal catanionique tridimensionnel.

16. Procédé de préparation d'une membrane catanionique telle que définie à l'une quelconque des revendications 1 à 15, caractérisé par le fait qu'il comprend les étapes suivantes :

- une première étape de formation de vésicules unilamellaires par mélange, dans un solvant aqueux de faible conductivité :

a) d'un tensioactif cationique (TC) à contre-ions OH^- en une quantité molaire Q_C et

b) d'un ou plusieurs tensioactifs anioniques (TA) en une quantité molaire Q_A strictement supérieure à Q_C , et répondant aux équations (1) à (3) suivantes :

$$Q_A = Q_{A1} + Q_{A2} \quad (1)$$

$$Q_{A1} = Q_C \quad (2) \text{ et}$$

$$Q_{A2} < 2(Q_C) \quad (3)$$

dans lesquelles :

- Q_{A1} est la quantité molaire d'un tensioactif anionique à contre-ion H^+

- Q_{A2} est la quantité molaire d'un tensioactif anionique à contre-ion H^+ ou à contre-ion métallique, lesdits tensioactifs ayant une chaîne carbonée identique à celle du TC ou du TA à contre-ion H^+ utilisé en quantité Q_{A1} .

ledit mélange de tensioactif cationique et de tensioactif anionique étant réalisé à une température supérieure à la température de fusion des chaînes desdits tensioactifs ;

5 - une deuxième étape d'obtention d'agrégats plans formés d'une seule bicouche moléculaire cristallisée, inter-digitée ou non, par refroidissement du mélange obtenu à la première étape à une température inférieure à la température de fusion des chaînes des tensioactifs présents dans le mélange ;

10 - une troisième étape de stabilisation des bicouches moléculaires cristallisées obtenues ci-dessus à la deuxième étape, par ajout d'au moins un polymère neutre partiellement hydrophobe ou d'un polymère de charge globale négative en solution dans un solvant aqueux de faible conductivité, ladite étape étant réalisée à une température inférieure à la température de fusion des chaînes des tensioactifs présents au sein du mélange.

15 17. Procédé selon la revendication 16, caractérisé par le fait que lorsque l'excès de tensioactif anionique est constitué par des tensioactifs anioniques à contre-ions métalliques, alors la première étape du procédé conforme à l'invention comprend :

20 - une première sous étape au cours de laquelle on réalise d'abord le mélange du tensioactif cationique à contre-ion OH^- avec le tensioactif anionique à contre ions H^+ en une quantité Q_{A1} égale à Q_C , puis

 - une deuxième sous étape au cours de laquelle on ajoute ensuite la quantité molaire Q_{A2} de tensioactif anionique à contre-ion métallique.

 18. Procédé selon la revendication 16 ou 17, caractérisé par le fait que les solvants aqueux ont une conductivité inférieure ou égale à 1 MOhm.

25 19. Procédé selon l'une quelconque des revendications 16 à 18, caractérisé par le fait que les solvants aqueux sont choisis parmi l'eau, le glycérol et leurs mélanges.

30 20. Procédé selon l'une quelconque des revendications 16 à 19, caractérisé par le fait que lors de la première étape, la concentration totale de tensioactifs au sein de la solution est comprise entre 0,01 et 3 % en poids par rapport au poids total de ladite solution.

ledit mélange de tensioactif cationique et de tensioactif anionique étant réalisé à une température supérieure à la température de fusion des chaînes desdits tensioactifs ;

5 - une deuxième étape d'obtention d'agrégats plans formés d'une seule bicouche moléculaire cristallisée, inter-digitée ou non, par refroidissement du mélange obtenu à la première étape à une température inférieure à la température de fusion des chaînes des tensioactifs présents dans le mélange ;

10 - une troisième étape de stabilisation des bicouches moléculaires cristallisées obtenues ci-dessus à la deuxième étape, par ajout d'au moins un polymère neutre partiellement hydrophobe ou d'un polymère de charge globale négative en solution dans un solvant aqueux de faible conductivité, ladite étape étant réalisée à une température inférieure à la température de fusion des chaînes des tensioactifs présents au sein du mélange.

15 17. Procédé selon la revendication 16, caractérisé par le fait que lorsque l'excès de tensioactif anionique est constitué par des tensioactifs anioniques à contre-ions métalliques, alors la première étape du procédé comprend :

20 - une première sous étape au cours de laquelle on réalise d'abord le mélange du tensioactif cationique à contre-ion OH^- avec le tensioactif anionique à contre ions H^+ en une quantité Q_{A1} égale à Q_C , puis
- une deuxième sous étape au cours de laquelle on ajoute ensuite la quantité molaire Q_{A2} de tensioactif anionique à contre-ion métallique.

18. Procédé selon la revendication 16 ou 17, caractérisé par le fait que les solvants aqueux ont une conductivité inférieure ou égale à 1 MOhm.

25 19. Procédé selon l'une quelconque des revendications 16 à 18, caractérisé par le fait que les solvants aqueux sont choisis parmi l'eau, le glycérol et leurs mélanges.

30 20. Procédé selon l'une quelconque des revendications 16 à 19, caractérisé par le fait que lors de la première étape, la concentration totale de tensioactifs au sein de la solution est comprise entre 0,01 et 3 % en poids par rapport au poids total de ladite solution.

21. Procédé selon l'une quelconque des revendications 16 à 20, caractérisé par le fait que lors de la première étape, le mélange est chauffé à une température supérieure à 50 °C et inférieure à 80°C.

5 22. Procédé selon l'une quelconque des revendications 16 à 21, caractérisé par le fait qu'au cours de la première étape, on ajoute au mélange au moins une substance active non chargée électriquement.

23. Procédé selon la revendication 22, caractérisé par le fait que la substance active est choisie parmi les principes actifs pharmaceutiques, les substances actives à visée cosmétique, les cellules et les fragments d'ADN ou d'ARN.

10 24. Procédé selon l'une quelconque des revendications 16 à 23, caractérisé par le fait que la fraction de volume de polymère ajouté au mélange lors de la troisième étape est comprise entre une et deux fois la masse totale des tensioactifs cationiques et anioniques.

15 25. Utilisation d'au moins une membrane catanionique telle que définie à l'une quelconque des revendications 1 à 15, à titre de médicament pour la vectorisation d'espèces actives ou pour la rétention par adsorption et diffusion lente de molécules volatiles.

20 26. Utilisation selon la revendication 25, caractérisée par le fait que la membrane catanionique se présente sous la forme d'un polyèdre creux et est utilisée pour :

- l'encapsulation de médicaments, en vue de leur vectorisation,
 - l'encapsulation de bactéries entières, de fragments d'ADN ou d'ARN,
 - la rétention de réactifs pour des réactions chimiques se produisant à
- 25 l'intérieur des polyèdres,
- la réalisation de réactions de précipitation ou de cristallisation à l'intérieur des polyèdres, par diffusion lente de réactifs vers l'intérieur au travers des pores des polyèdres,
 - à titre d'ingrédient cosmétique pour la fabrication de crèmes,
- 30 obtenues par floculation sous la forme de grappes de polyèdres, et permettant la

diffusion efficace de molécules actives après adsorption du polyèdre sur des surfaces de potentiel électrique de surface opposé.

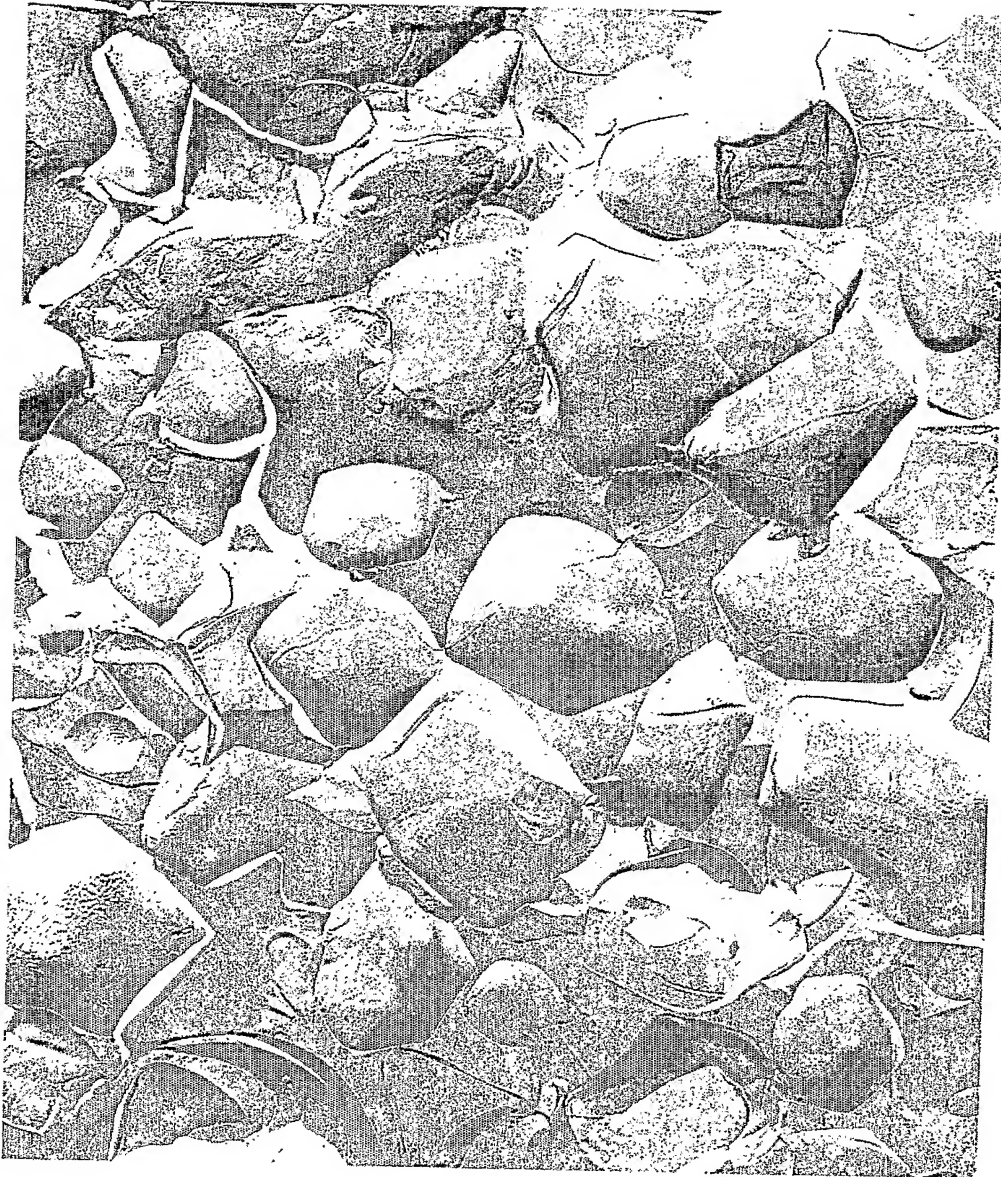


FIGURE 1



FIGURE 2

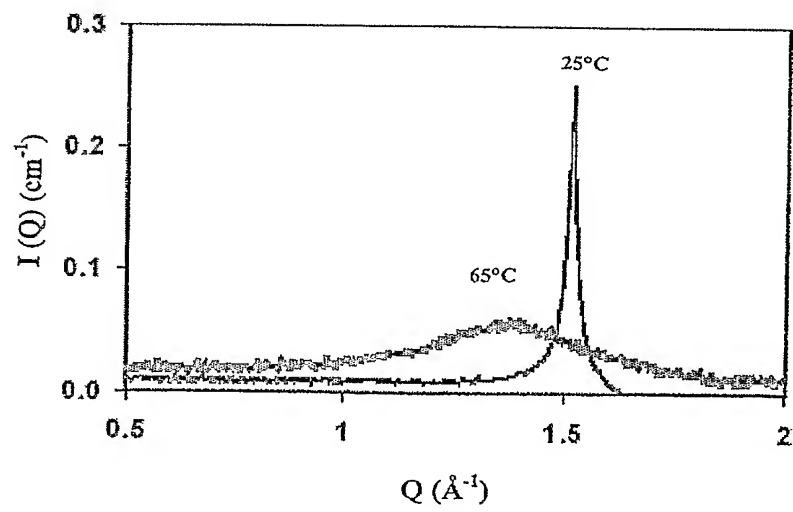


FIGURE 3

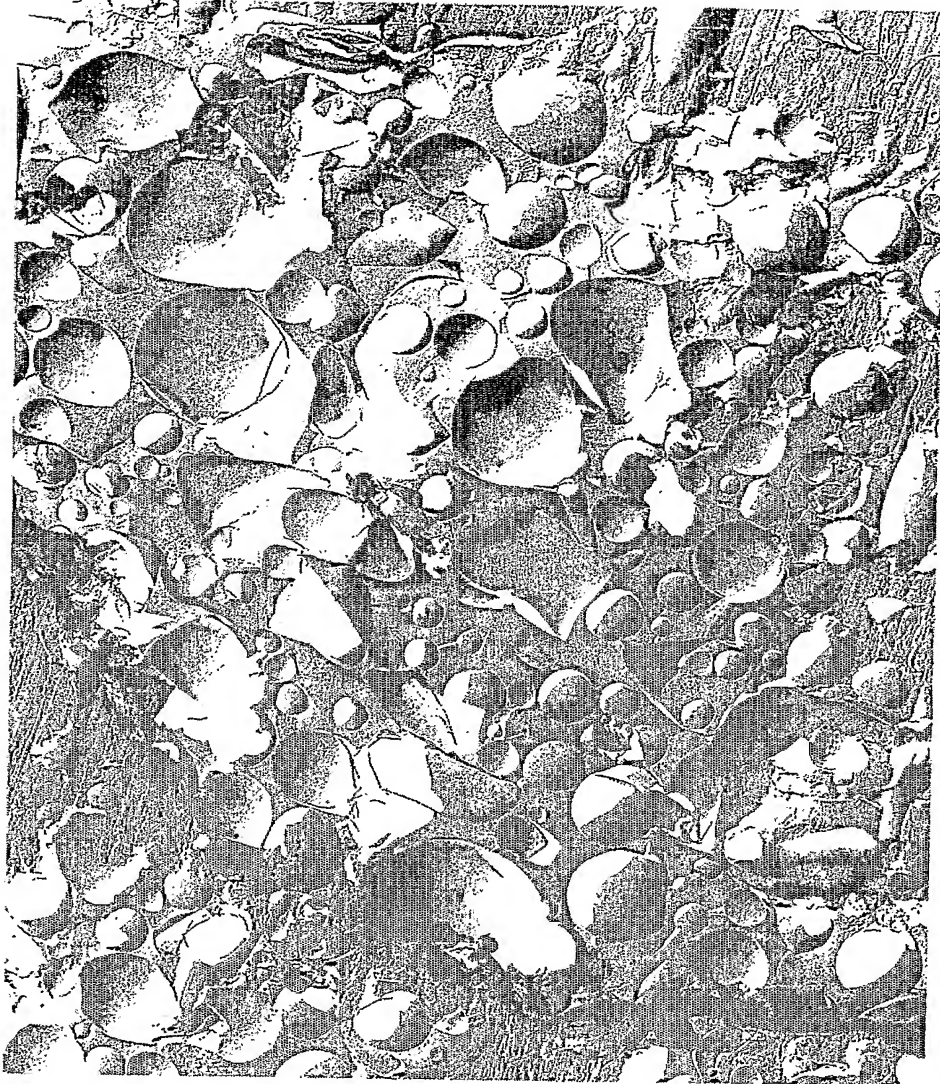


FIGURE 4

**BREVET D'INVENTION****CERTIFICAT D'UTILITÉ**

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1.../1...(À fournir dans le cas où les demandeurs et
les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 @ W / 270601

Vos références pour ce dossier (facultatif)		SGimF263/92FR
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		0401579
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)		
MEMBRANES CATANIONIQUES CRISTALLISEES STABILISEES PAR DES POLYMERES, LEUR PROCEDE DE PREPARATION ET APPLICATIONS		
LE(S) DEMANDEUR(S) :		
COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE 31-33 rue de la Fédération 75015 PARIS		
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :		
1	Nom	DUBOIS
	Prénoms	Monique
Adresse	Rue	2 allée de Tisfoune
	Code postal et ville	91140 ORSAY
Société d'appartenance (facultatif)		
2	Nom	ZEMB
	Prénoms	Thomas
Adresse	Rue	58 rue du Louvre
	Code postal et ville	77182 VIROFLAY
Société d'appartenance (facultatif)		
3	Nom	
	Prénoms	
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		
S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.		
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		
Sophie GOULARD N°02-0503		

